

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
22. März 2001 (22.03.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/19961 A3

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: C12N 5/06, 5/08

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE00/03140

(22) Internationales Anmeldedatum:
11. September 2000 (11.09.2000)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
199 43 517.0 11. September 1999 (11.09.1999) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): UNIVERSITÄTSKLINIKUM DER RHEINISCH-WESTFÄLISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE AACHEN [DE/DE]; Pauwelsestrasse 30, 52074 Aachen (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): VON HEIMBURG, Dennis [DE/DE]; Theresienstrasse 18, 52072 Aachen (DE).

(74) Anwalt: KÖNIG, Werner, E.; König & Kollegen, Habsburgerallee 23-25, 52064 Aachen (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BC, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:
— mit internationalem Recherchenbericht

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen
Recherchenberichts: 4. Oktober 2001

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: METHOD FOR CULTIVATING LIVING CELLS, ESPECIALLY MATURE FAT CELLS, WHICH ARE PREPARED FROM TISSUE AND FLOAT IN LIQUIDS

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR KULTIVIERUNG VON AUS GEWEBE PRÄPARIERTEN LEBENDEN ZELLEN, DIE IN FLÜSSIGKEIT AUFSCHWIMMEN, INSBESONDERE REIFEN FETTZELLEN

(57) Abstract: The invention relates to methods for cultivating living cells, especially mature fat cells, which are prepared from tissue and float in liquids. The cells, together with a liquid adhering medium acting as a distribution aid, are first mounted to the cell culture base of a cell culture basin. The cells mechanically adhere to said base with increasing evaporation of the adhering medium. The adhering medium is subsequently added to the cells as an additional layer. The cells are stored under standard conditions for cell cultures for at least 12 hours, while at least some cells biologically adhere to the cell culture base. A technically simple and cost-effective method for cultivating cells on cell culture bases resulting in a high yield is thus provided with the aid of cell culture basins. The basis of, metabolic examinations for instance, in the pharmaceutical industry is provided by in-vitro cultivating individual cells according to the invention. Complicated and ethically dubious animal experiments are thus prevented or at least reduced to a minimum.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft Verfahren zur Kultivierung von aus Gewebe präparierten lebenden Zellen, die in Flüssigkeit aufschwimmen, insbesondere reifen Fettzellen, wobei die Zellen zuerst zusammen mit einem flüssigen Anheftmedium als Verteilungshilfe auf den Zellkulturboden einer Zellkulturschale aufgebracht werden, an dem sie mit zunehmender Verdunstung des Anheftmediums mechanisch anhaften und dann die Zellen mit dem Anheftmedium überschichtet und mindestens 12 h bei Standardbedingungen für Zellkulturen gelagert werden, währenddessen sich zumindest einige Zellen biologisch auf dem Zellkulturboden anheften. Hierdurch wird unter Zuhilfenahme von Zellkulturschalen ein technisch einfaches und preiswertes Verfahren zur Kultivierung von Zellen auf Zellkulturböden mit einer hohen Ausbeute geschaffen. Durch diese in-vitro-Kultivierung einzelner Zellen wird die Basis z.B. für Stoffwechseluntersuchungen in der pharmazeutischen Industrie gebildet. Aufwendige und ethisch bedenkliche Tierversuche werden somit vermieden oder zumindest auf ein Minimum begrenzt.

WO 01/19961 A3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern. Application No

PCT/DE 00/03140

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C12N5/06 C12N5/08

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

BIOSIS, EPO-Internal, PAJ, WPI Data, MEDLINE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 98 33889 A (THE PENN STATE RESEARCH FOUNDATION) 6 August 1998 (1998-08-06) the whole document	1-17
A	PATRICK C W JR ET AL: "Preadipocyte seeded PLGA scaffolds for adipose tissue engineering." TISSUE ENGINEERING, vol. 5, no. 2, April 1999 (1999-04), pages 139-151, XP000990997 ISSN: 1076-3279 the whole document	1-17

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

E earlier document but published on or after the international filing date

L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

A document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

5 April 2001

Date of mailing of the international search report

18/04/2001

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Moreau, J

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern. Application No

PCT/DE 00/03140

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>HAUNER H ET AL: "EFFECTS OF EPIDERMAL GROWTH FACTOR (EGF), PLATELET-DERIVED GROWTH FACTOR (PDGF) AND FIBROBLAST GROWTH FACTOR (FGF) ON HUMAN ADIPOCYTE DEVELOPMENT AND FUNCTION"</p> <p>EUROPEAN JOURNAL OF CLINICAL INVESTIGATION, XX, BLACKWELL SCIENTIFIC PUBLICATIONS,</p> <p>vol. 25, 1995, pages 90-96, XP000198734</p> <p>ISSN: 0014-2972</p> <p>the whole document</p> <p>---</p>	1-17
A	<p>PETRUSCHKE T ET AL: "TRANSFORMING GROWTH FACTOR BETA (TGF-BETA) INHIBITS THE DIFFERENTIATION OF HUMAN ADIPOCYTE PRECURSOR CELLS IN PRIMARY CULTURE"</p> <p>INTERNATIONAL JOURNAL OF OBESITY, GB, NEWMAN PUBLISHING, LONDON,</p> <p>vol. 18, 1 August 1994 (1994-08-01), pages 532-536, XP000198733</p> <p>ISSN: 0307-0565</p> <p>the whole document</p> <p>-----</p>	1-17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/DE 00/03140

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9833889 A	06-08-1998	AU 6054698 A	25-08-1998

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Intern. Aktenzeichen

PCT/DE 00/03140

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 C12N5/06 C12N5/08

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C12N

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

BIOSIS, EPO-Internal, PAJ, WPI Data, MEDLINE

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	WO 98 33889 A (THE PENN STATE RESEARCH FOUNDATION) 6. August 1998 (1998-08-06) das ganze Dokument	1-17
A	--- PATRICK C W JR ET AL: "Preadipocyte seeded PLGA scaffolds for adipose tissue engineering." TISSUE ENGINEERING, Bd. 5, Nr. 2, April 1999 (1999-04), Seiten 139-151, XP000990997 ISSN: 1076-3279 das ganze Dokument --- -/-	1-17

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

A Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

5. April 2001

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

18/04/2001

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Moreau, J

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Intern. nales Aktenzeichen

PCT/DE 00/03140

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	<p>HAUNER H ET AL: "EFFECTS OF EPIDERMAL GROWTH FACTOR (EGF), PLATELET-DERIVED GROWTH FACTOR (PDGF) AND FIBROBLAST GROWTH FACTOR (FGF) ON HUMAN ADIPOCYTE DEVELOPMENT AND FUNCTION"</p> <p>EUROPEAN JOURNAL OF CLINICAL INVESTIGATION,XX,BLACKWELL SCIENTIFIC PUBLICATIONS,</p> <p>Bd. 25, 1995, Seiten 90-96, XP000198734</p> <p>ISSN: 0014-2972</p> <p>das ganze Dokument</p> <p>---</p>	1-17
A	<p>PETRUSCHKE T ET AL: "TRANSFORMING GROWTH FACTOR BETA (TGF-BETA) INHIBITS THE DIFFERENTIATION OF HUMAN ADIPOCYTE PRECURSOR CELLS IN PRIMARY CULTURE"</p> <p>INTERNATIONAL JOURNAL OF OBESITY,GB,NEWMAN PUBLISHING, LONDON,</p> <p>Bd. 18, 1. August 1994 (1994-08-01),</p> <p>Seiten 532-536, XP000198733</p> <p>ISSN: 0307-0565</p> <p>das ganze Dokument</p> <p>-----</p>	1-17

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Intern. :ales Aktenzeichen

PCT/DE 00/03140

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9833889 A	06-08-1998	AU 6054698 A	25-08-1998